©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

werden die Höhlenwände verdünnt, zurückgedrängt und schließlich auch durchbrochen. Der Pedikel pflegt schmal und niedrig zu bleiben, so daß er atrophieren und abbrechen kann. Dann wird das Osteom von seinem Mutterboden getrennt und wird zum „nekrotischen Knochenkonkrement". H. Tillmanns (4) hat diese Osteome als tot bezeichnet. Sie vermögen auch nicht mehr zu wachsen, sie verursachen, wenn sie die Nachbarschaft noch nicht bedrängen, für den Rest des Lebens keine Beschwerden. Lediglich bei einem Infekt der Höhle können sie zu Komplikationen führen.

Die Merkmale des Fundstückes (s. Abschn. I) erweisen, daß es sich um ein gestieltes eburnisiertes Osteom, also mit größter Wahrscheinlichkeit um ein Höhlenosteom handelt. Da es an einer Fundstätte von Höhlenbärenknochen bemerkt wurde und wegen seiner Ausmaße in einer pneumatischen Höhle eines Höhlenbärenschädels Platz findet (s. Abschn. IV), darf angenommen werden, daß ein Höhlenosteom von einem Höhlenbären vorliegt.

Ein in diesem Zusammenhang bemerkenswerter Hinweis findet sich bei J. H. Childrey (5): Osteome des Schädeldachs und besonders des Stirnbeins finden sich bei Tieren, am häufigsten bei Wiederkäuern. Eine Beziehung zur Hornbildung, aber noch viel mehr zur Geweihbildung wird von diesem Autor angenommen.

Literaturhinweise zu II.

1) Kaufmann, E.: Spezielle pathologische Anatomie. De Gruyter 1938.
2) Schwartz, Ch. W.: Americ. Journ. Roentgenol. **44**, 188, 1940.
3) Scholtz, A.: Röntgenpraxis **13**, 213, 1941.
4) Tillmanns, H.: Archiv für klin. Chir. **32**, 677 und Lehrbuch der spez. Chirurgie, Veit & Co. 1894.
5) Childrey, J. H.: Archiv of Otolaryngology **30**, 63, 1939.

III. Die licht- und elektronenmikroskopische Untersuchung

Von H. Adam und H. Friedl

Ergebnisse der lichtmikroskopischen Untersuchung

Bei Betrachtung im Hellfeld sind bei 100facher und 250facher Vergrößerung bei sehr stark zugezogener Aperturblende des Kondensors im Schliffpräparat schattenartige Punkte zu erkennen, die nach ihrer Anordnung die Vermutung nahelegen, daß es sich um

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

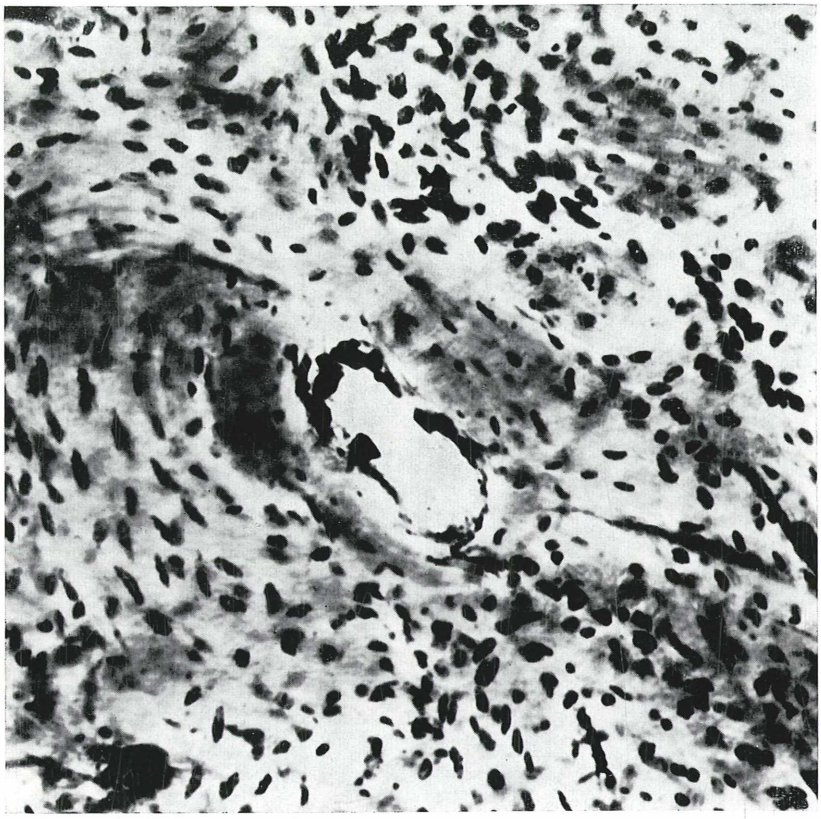


Abb. 4. Zirkuläre Anordnung der Osteocyten um einen Blutgefäßkanal. Typisches Haverssches System oder Osteon. — Dünnschliff. Aufnahme mit Reichert-Zetopan, Objektiv 10:1, Okular 8fach. Gesamtvergrößerung 357:1.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

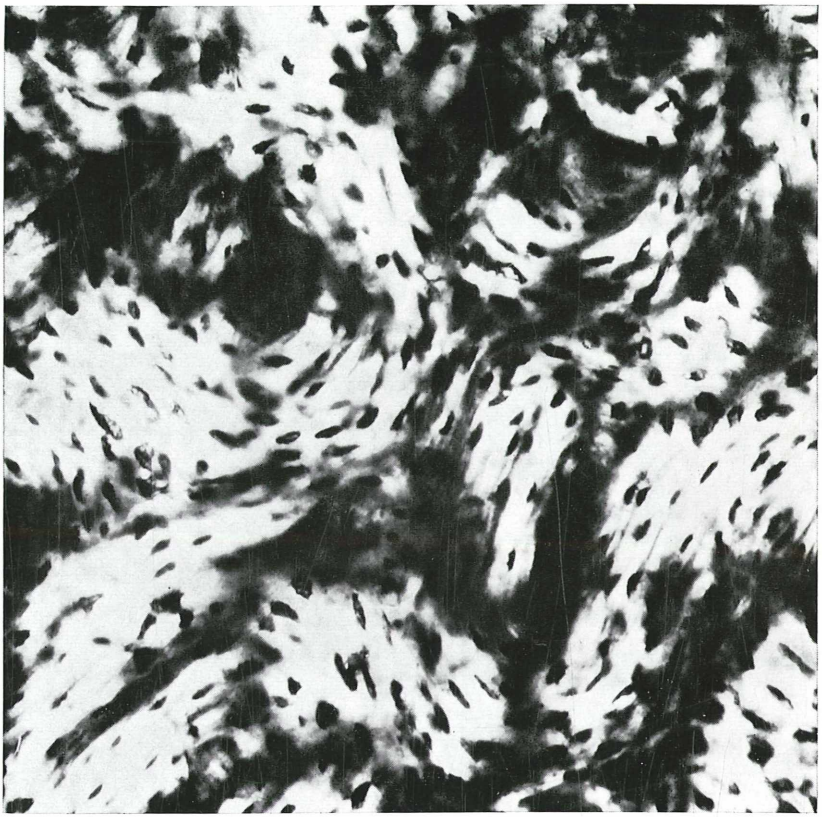
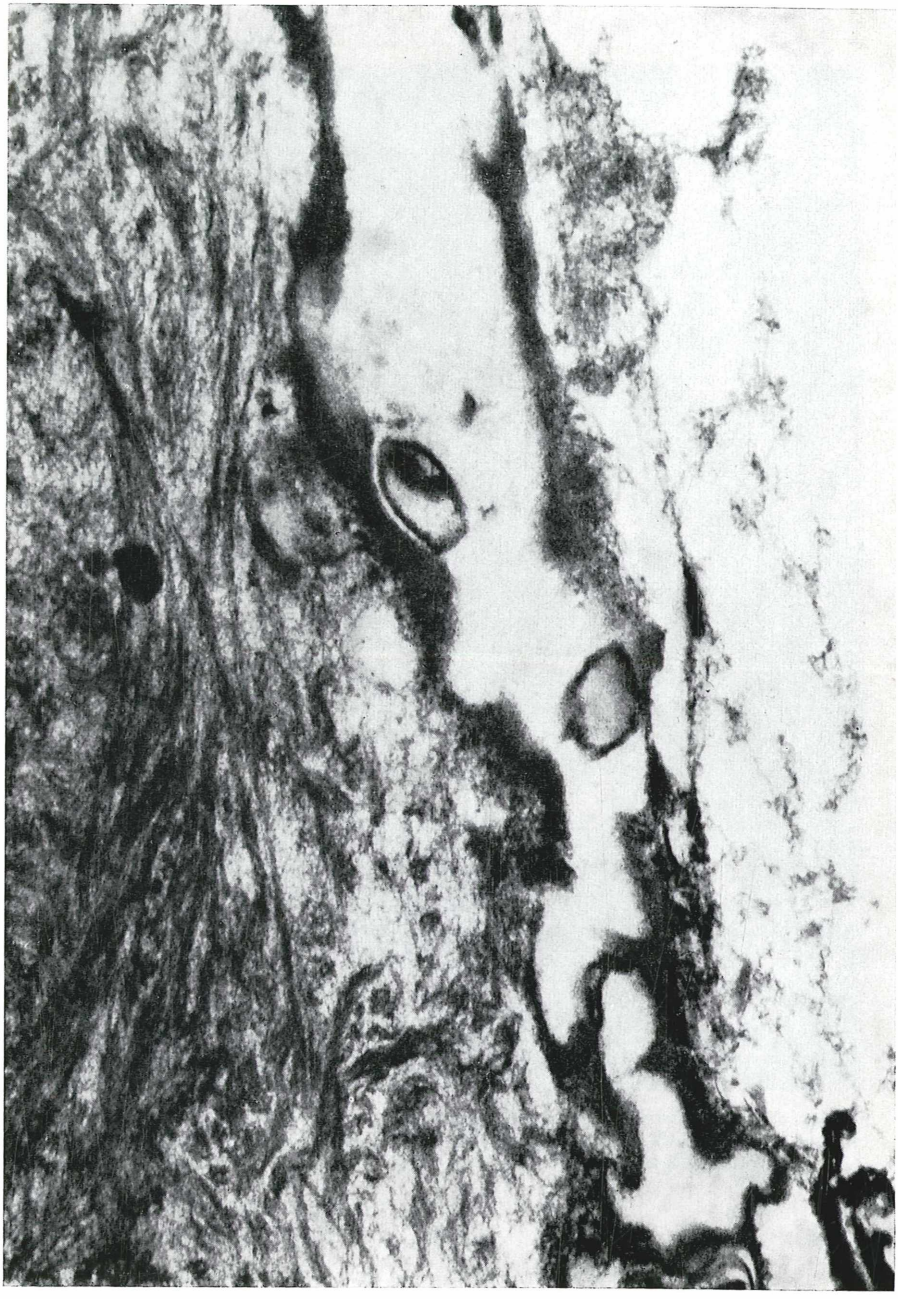


Abb. 5. Schleifen- oder wirtelförmige Anordnung der kollagenen Fibrillen in mehreren nebeneinanderliegenden Osteonen. Doppelbrechung der kollagenen Fibrillen am Aufleuchten im Polarisationsmikroskop bei gekreuzten Polarisationsfiltern erkennbar. — Dünnschliff. Aufnahme mit Reichert-Zetopan, Objektiv 10:1, Okular 8fach. Gesamtvergrößerung 406:1.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Abb. 6. Kräftig kontrastierte kollagene Fasern im linken Bildteil. Bleihydroxyd- und Uranylacetat-Kontrastierung. Periodizität hier nicht erkennbar. Rechts von den Fasern Andeutung einer Howshipschen Lakune mit den Umrissen von zwei fossilen Zellresten, die wahrscheinlich Osteoklasten entsprechen. — Elektronenmikroskop Zeiss EM 9 A. Gesamtvergrößerung 54.000:1.



©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

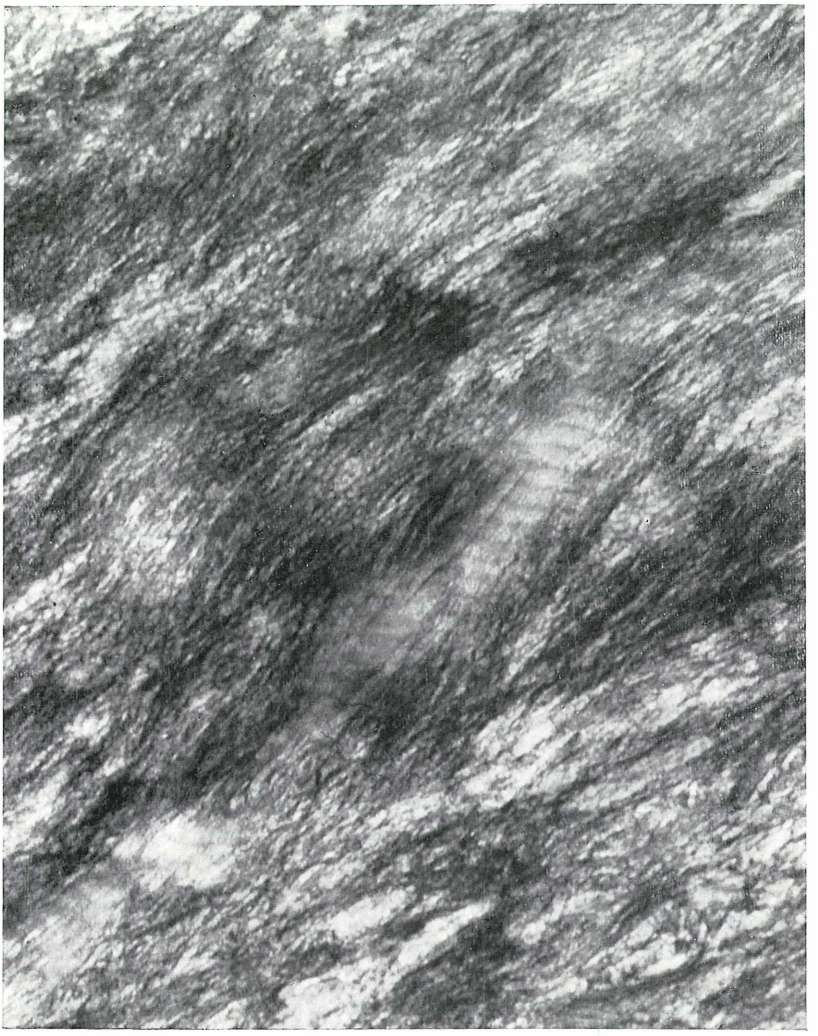


Abb. 7. In der Bildmitte deutlich erkennbare Kollagenperiodizität. Die Umgebung wird von dicht kontrastierten Fasern gebildet, die keine Periodizität erkennen lassen. — Elektronenmikroskop Zeiss EM 9 A. Gesamtvergrößerung 56.880:1.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Osteophytenreste handelt. Im Polarisationsmikroskop (Typ Reichert Zetopan) sind bei diesen Vergrößerungsstufen die Osteocyten als dunkle, meist spindelförmige Gebilde erkennbar (Taf. 2 und 3, Abb. 4 und 5). Im Hell- und Dunkelfeld lassen die Osteocyten eine Anordnung in zwei Formen erkennen: Erstens liegen sie in einigen Abschnitten des Anschliffes in paralleler Anordnung vor, die einem Aufbau, der in platten Knochen, z. B. der Schädelkapsel, gefunden werden kann, entspricht; zweitens ist in verschiedenen Abschnitten des Schliffes eine Anordnung der Osteocyten zirkulär um ein zentrales Gefäß nachweisbar. Diese Anordnung entspricht jener in Osteonen von Röhrenknochen. Im Polarisationsmikroskop sind bei gekreuzten Pol-Filtern die Osteone in diesem Falle besonders deutlich darstellbar (Taf. 3, Abb. 5). In den Schliffen ist die Orientierung der mineralisierten Kollagenfasern in der Knochengrundsubstanz polarisationsoptisch deutlich nachweisbar. Die wirtelartige Anordnung ist besonders nach Anwendung einer Glimmerplatte Rot I deutlich zu demonstrieren. Die Doppelbrechung der Fasern entspricht jener von Kollagen im nativen Knochen.

Ergebnisse der elektronenmikroskopischen Untersuchung

Ein etwa 1 mm langer und 0,5 mm dicker Teil des zur Untersuchung vorliegenden Knochenstücks wurde in gepuffertem Osmiumtetroxyd nach PALADE fixiert und danach über Alkohol und Propylenoxyd in Viapal (Vianova Graz—Wien) eingebettet. Es zeigte sich, daß die Objekte einige Tage nach der Einbettung in das Harz eine für das Schneiden günstige Konsistenz erreichten. Zusätzlich wurden auch Versuche mit einer Demineralisierung mittels 5%iger Trichloressigsäure gemacht. Ultradünnschnitte von ca. 200 nm Dicke wurden mit dem Ultramikrotom UM 2 der Firma Reichert (Wien) angefertigt und mit Bleihydroxyd und Uranylacetat nachkontrastiert. Die elektronenmikroskopische Untersuchung erfolgte in einem Elektronenmikroskop Zeiss EM 9 A. Diese Untersuchung wurde durch ein Stipendium des österreichischen Forschungsrates möglich.

Die Feinstruktur der Osteocyten konnte in den elektronenmikroskopischen Bildern nicht näher analysiert werden, da sie nach der Kontrastierung für die Elektronenstrahlen undurchdringlich waren. Überraschenderweise zeigte die Knochengrundsubstanz hingegen zweierlei Faserstrukturen. Es wurde erstens ein feines Faserwerk im gesamten Bereich zwischen den Osteocyten gefunden, das vermutlich den mineralisierten Osseinfasern entspricht. In einigen

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Präparaten, insbesondere dann, wenn sie zusätzlich mit einer Kaliumpermanganatlösung behandelt wurden, trat in dickeren Fasern eine periodische Streifung auf (Taf. 4 und 5, Abb. 6 und 7). Die Periodizität dieser Streifung wurde durch mehrere Messungen ermittelt. Dabei zeigte sich, daß die gemessenen Werte unter jenem liegen, der für normales Kollagen in der Literatur (RHODIN 1967; HAUST und MORE 1967 u. a.) mit 64 nm = 640 Ångström angegeben wird. Die Periodizität der kollagenen Fasern in unseren Präparaten ist auf Taf. 5, Abb. 7 (Mitte) gut erkennbar. Die ermittelten Werte lagen durchwegs unter 50 nm = 500 Ångström. Dieser niedrigere Wert der Kollagenperiodizität könnte eine Folge der speziellen, von uns verwendeten Technik sein, möglicherweise ist sie aber auch eine Folge des Fossilisationsprozesses. Zur Klärung dieser Frage sind noch weitere Untersuchungen notwendig.

Schlußfolgerung: Das zur licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchung vorgelegte Knochenstück zeigt in seiner Feinstruktur den typischen Aufbau von Knochenmaterial. Osteocyten und Osteone sind nachweisbar. In der Knochengrundsubstanz konnte die Kollagenfeinstruktur nachgewiesen werden. Da die Osteonanordnung innerhalb des Knochenstückes jedoch völlig unregelmäßig ist und keine Beziehung zu von außen angreifenden Muskelkräften zeigt (Trajektorienprinzip), ist zu vermuten, daß das Wachstum ohne Beeinflußung durch normale Kräfte erfolgte. Die licht- und elektronenmikroskopische Feinstruktur des Gewebes spricht dafür, daß es sich um ein lokales Osteom handelt, das wahrscheinlich innerhalb einer Knochenhöhle, vielleicht im Sinus frontalis, gewachsen ist.

Besprechung der Literatur und Diskussion der Ergebnisse

Die Durchsicht der einschlägigen Literatur hat ergeben, daß fossile Knochen schon seit etwa 100 Jahren lichtmikroskopisch untersucht wurden (s. z. B. Zusammenfassung bei ASCENZI 1963). Ein Fund, wie jener, der von Professor EHRENBERG zur licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchung vorgelegt werden konnte und der mit größter Wahrscheinlichkeit einem Osteom bei einem Höhlenbären entspricht, wurde nach unserer Kenntnis bisher nicht bearbeitet. Auch liegen nach Durchsicht der Literatur keine Befunde über die elektronenmikroskopische Feinstruktur von Höhlenbärenknochen vor. W. HELLER (1965), der über die Biochemie und Feinstruktur fossiler Knochen aus bituminösen Schichten (Mittlere Alpine Trias aus dem Tessin und Lias Epsilon von Holzmaden) berichtete (1965)

und auch eine methodische Untersuchung zur Darstellung der Kollagenstruktur des fossilen und rezenten Knochens vorlegte (1967), weist auf die gute Erhaltung der Kollagenfasern in fossilem Knochenmaterial hin. Die Zusammenfassung von ASCENZI (1963) und die dort angeführten Arbeiten von RANDALL, FRASER, JACKSON, MARTIN und NORTH (1951) enthalten ebenfalls Angaben über die elektronenmikroskopische Feinstruktur von Kollagenfasern in fossilem Knochenmaterial. HELLER (1967) fand bei pleistozänem Knochenmaterial eine Verkürzung der Kollagenperiodizität auf ca. 60 nm (= 600 Ångström), miozäne Knochen zeigten oft einen Faserabstand von nur 50 nm (= 500 Ångström). Über die Kollagenperiodizität in fossilem Knochen- und Zahnmaterial berichteten SHAKLEFORD und WYCKHOFF (1964) sowie WYCKHOFF und DOBERENZ (1965), doch lassen sich aus den Ergebnissen dieser Arbeiten keine Schlußfolgerungen für die Deutung des vorliegenden Höhlenbärenfundes machen. Die im bisher von uns untersuchten Osteommaterial vorliegenden kollagenen Fasern zeigten eine gegenüber der Norm von rezentem Knochenmaterial deutlich verringerte Periodizität.

Zur eindeutigen Klärung dieses Phänomens werden noch weitere Untersuchungen notwendig sein.

Literaturhinweise zu III.

1) ASCENZI, A.: Microscopy and Prehistoric Bone. In: Science in Archaeology, Thames and Hudson, 1963, S. 330—342.

2) HAUST, M. D. and MORE, R. H.: Electron Microscopy of Connective Tissue and Elstogenesis. In: WAGNER, B. M. and SMITH, D. E., The Connective Tissue. The Williams & Wilkins Comp., Baltimore 1967.

3) HELLER, W.: Biochemie und Feinstruktur fossiler Knochen aus bituminösen Schichten. Geolog. Rundschau **55**, 119—130, 1965.

4) — Methodische Untersuchungen zur Darstellung der Kollagenstruktur des fossilen und rezenten Knochens. N. Jb. Geolog. Paläontol. Abh. **129**, 222—230, 1967.

5) RANDALL, J. T., FRASER, R. D. B., JACKSON, S., MARTIN, A. V. W. and NORTH, A. C. T.: Nature **169**, 1029—1033, 1952.

6) RHODIN, J. A. G.: Organisation and Ultrastructure of Connective Tissue. In: WAGNER, B. M. and SMITH, D. E.: „The Connective Tissue". The Williams & Wilkins Comp., Baltimore 1967.

7) SHAKLEFORD, J. M. and WYCKHOFF, R. W. G.: Collagen in Fossil Teeth and Bones. J. Ultrastr. Res. **11**, 173—180, 1964.

8) WYCKHOFF, R. W. G. and DOBERENZ, R.: Le Collagène dans le dents de Pléistocène. J. Microsc. **4**, 271—274, 1965.